

**К.В. Розова**

## **Вплив нормо- та гіпобаричної гіпоксії на ультраструктуру тканин легень і міокарда**

*Изучена приоритетность влияния изменений концентрации кислорода и/или атмосферного давления на морфофункциональное состояние ткани легких и миокарда при экзогенных воздействиях на организм, приводящих к развитию гипоксических состояний различного генеза. Показано, что прерывистое гипоксическое воздействие без снижения барометрического давления оказывает на ультраструктуру тканей менее травматичное воздействие, чем гипобарическая гипоксия. Дополнительное острое гипоксическое воздействие и острая дозированная кровопотеря сопровождаются менее выраженными структурными нарушениями в ткани легких и миокарде у животных, адаптированных к гипобарической гипоксии. Стрессорные изменения оказываются менее выраженными после нормобарических гипоксических тренировок.*

### **ВСТУП**

Незважаючи на те, що гіпоксична гіпоксія у різних її модифікаціях (інтервальні гіпоксичні тренування, адаптація до умов природного або штучного гірського клімату тощо) останнім часом знаходить все більш широке застосування в клінічній практиці та спортивній медицині [2, 5], механізми її впливу на організм, особливо для виявлення пріоритетності змін концентрації кисню або атмосферного тиску, досліджені недостатньо, а у деяких випадках практично зовсім не вивчені. Зокрема це стосується стану органів і систем, що беруть безпосередню участь у забезпеченні організму киснем, а саме дихальної та серцево-судинної систем [2, 5, 7]. Це питання набуває виключного значення при прийнятті рішення про вибір тренувального впливу в кожному конкретному випадку гіпоксичних газових сумішей з нормальним барометричним тиском або з одночасним зниженням як концентрації кисню, так і тиску.

Метою нашої роботи було дослідження пріоритетності впливу змін концентрації

кисню та/або атмосферного тиску на морфофункціональний стан тканини легень і міокарда при екзогенних впливах на організм, які призводять до розвитку гіпоксичних станів різного генезу.

### **МЕТОДИКА**

Дослідження виконано на білих статевозрілих щурах-самцях масою 250–300 г. Роботу з лабораторними тваринами проводили з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей (Страсбург, 1985).

Тканини легень і серця досліджували у нормобаричних умовах (м. Київ) та в умовах середньогір'я (гіпобарія) на тваринах-аборигенах, які протягом кількох поколінь проживали у с. Терскол на висоті 2100 м над рівнем моря.

Схеми проведення експериментів були такими: 1. Інтервальні гіпоксичні тренування в умовах нормобарії, які проводили за допомогою газової суміші, що містила

© К.В. Розова

12 % O<sub>2</sub> в азоті – тварини дихали по 15 хв гіпоксичною сумішшю з 15-хвилинними нормоксичними інтервалами щоденно по 4 тренувальні цикли (період тренування – 2 тиж). 2. Переривчаста гіпоксична гіпоксія в умовах гіпобарії, яку створювали за допомогою „підйому” у барокамері на умовну висоту 5000 м над рівнем моря зі швидкістю 1000 м за 10 хв та перебування на цій „висоті” протягом 6 год щоденно (період тренування – 2 тиж). 3. Додаткові впливи на організм: а) гостра нормобарична гіпоксична гіпоксія (газова суміш з 7 % O<sub>2</sub> у N<sub>2</sub>, експозиція 30 хв); б) гостра крововтрата 25–30 % від об’єму циркулюючої крові (експозиція 30 хв); в) гострий 6-годинний іммобілізаційний стрес.

Відповідно до поставленої мети, в роботі використовувалися такі поєднання впливів на організм та формувалися відповідні експериментальні групи щурів, що включали по 5-6 тварин кожна:

Номер групи	Умови проведення експерименту
1.	Контрольна група (Київ)
2.	Умови середньогір’я (тварини-аборигени) (Терскол)
3.	Інтервальні гіпоксичні тренування (нормобарична гіпоксія)
4.	Переривчаста гіпоксична гіпоксія (гіпобарична гіпоксія)
5.	Нормобарична гіпоксія та гостра крововтрата
6.	Умови середньогір’я та гостра крововтрата
7.	Нормобарична нормоксія та іммобілізаційний стрес
8.	Умови середньогір’я та іммобілізаційний стрес
9.	Нормобарична гіпоксія та гостра гіпоксична гіпоксія
10.	Гіпобарична гіпоксія та гостра гіпоксична гіпоксія
11.	Нормобарична гіпоксія та іммобілізаційний стрес
12.	Гіпобарична гіпоксія та іммобілізаційний стрес

Препарати для електронно-мікроскопічних досліджень готували за загальноприйнятою методикою з подвійною фіксацією глютаральдегідом і OsO<sub>4</sub>, зневоднюванням спиртами зростаючої концентрації та наступною заливкою в епон [1]. Ультратонкі зрізи товщиною 40–60 нм, контрастовані ураніацетатом і цитратом свинцю, досліджували за допомогою електронних мікроскопів JEM-100 CX та ПЕМ-125К. Морфометричну оцінку тканини легень і міокарда, зокрема товщину аерогематичного бар’єра легень (АГБ) та гемато-паренхіматозного бар’єра в міокарді (ГПБ), виконували відповідно до підходів Вейбеля [6]; інші морфометричні характеристики – за допомогою програми „Image Tool Version 3” (США). Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи критерій t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ідея дослідження сформувалася тоді, коли були виявлені особливості ультраструктури досліджуваних тканин в організмі щурів, котрі протягом кількох поколінь жили та розмножувалися в умовах середньогір’я (2-га група). Зокрема було показано, що у цих тварин розвиваються зміни ультраструктури пристосувального характеру, а саме – значне збільшення кількості сурфактант-синтезуючих структур – ламелярних тілець і вільних сурфактантів у легенях, що перешкоджає злипанню альвеол у гіпоксичних умовах; збільшення кількості та зменшення розмірів мітохондрій в міокарді, що призводить до збільшення площі поверхні мітохондріальних мембран в одиниці об’єму тканини. Дані морфологічні особливості підтверджуються морфометричними характеристиками тканин: в легенях – кількість ламелярних тілець зростала на 35–40 %; середня площа, яку займають вільні (активні та резервні) сурфактанти у порожнині альвеол зростала на 70–75 %; в міокарді – кількість мітохондрій збіль-

шувалася на 35–40 %, а їх діаметр зменшувалася майже на 50 %.

Оскільки тривала адаптація до гіпоксії наразі має вже генетичну природу, до пояснення виявлених особливостей можна залучити результати досліджень останніх років, пов'язаних з виявленням ролі генетичних факторів. Зокрема вважають, що в легенях важливе значення для гомеостазу сурфактантів відіграють SP-D-ген та GM-CSF-фактор. З їх допомогою регулюється проліферація та диференціація пневмоцитів II типу, які містять ламелярні тільця, і катаболізм сурфактантів [8, 9]. Можна припустити, що у шурів-аборигенів спостерігається підвищена експресія цих факторів, що не тільки призводить до збільшення кількості ламелярних тілець, але й супроводжується підвищенням кліренсу сурфактантів. В міокарді в умовах хронічної гіпоксії не спостерігається порушення структури саркомерів, що є характерним для гострих гіпоксичних впливів. Окрім цього, не спостерігається загибелі кардіоміоцитів або значних порушень структури мітохондрій. Можна припустити, що нативна структура тканини певною мірою пов'язана з оптимальною для умов існування експресією генів  $\alpha$ - і  $\beta$ -МуНС і PTH type 1 receptor, які від-

повідають за збереженість міокарда [10].

Різниця у розвитку гіпоксичних станів в нормо- та гіпобаричних умовах була виявлена при порівнянні перебігу гострої крововтрати та гострого іммобілізаційного стресу на рівнині та у середньогір'ї. Було встановлено, що в горах крововтрата впливає на морфофункціональний стан тканин значно менше. Якщо в умовах нормобарії (5-та група) з боку тканини легень виявляли наявність деструктивних процесів, набряку, включаючи і набряк як внутрішньоальвеолярний, так і АГБ, то при гіпобарії (6-та група) таких порушень не спостерігалось. При цьому, якщо середня товщина АГБ при крововтраті достовірно не змінювалася відносно відповідного „гірського” контролю, то при крововтраті в умовах нормобаричної гіпоксії середня товщина АГБ знижувалася за рахунок виражених деструктивних процесів у бар'єрі (рис. 1,а).

Така тенденція в цілому зберігалася і в міокарді, однак, оскільки ця тканина є більш стійкою до несприятливих впливів, то, поперше, деструктивні процеси у тканині та ГПБ у тварин 6-ї групи не виявлялися, по-друге, гіпергідратація бар'єра у тварин-аборигенів при крововтраті була достовірно

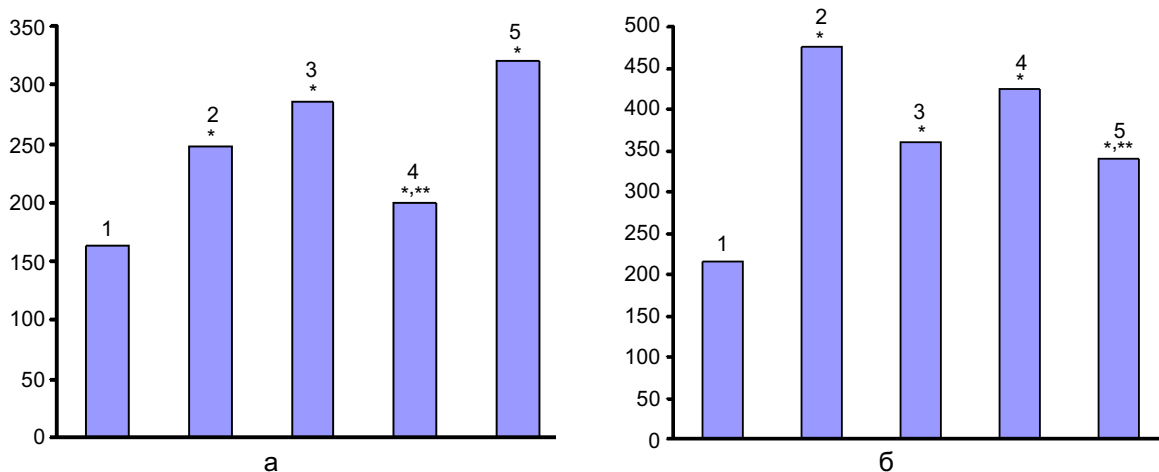


Рис. 1. Середня товщина аерогематичного бар'єра легень (а) та гематопаренхіматозного бар'єра міокарда (б) при гострій крововтраті у шурів в м. Київ та с. Терскол (нм). Умовні позначення: 1 – контроль, 2 – гіпоксія, 3 – умови середньогір'я, 4 – гіпоксія та крововтрата, 5 – умови середньогір'я та крововтрати, \* – достовірність порівняно з контролем, \*\* – зі змінами при впливі гіпоксії

нижчою за відповідний контроль (2-га група) (на рівнині цього ефекту при гіпоксії та крововтраті не спостерігалось) (див. рис. 1,б). При цьому слід підкреслити, що у тварин, які провели у гірських умовах не більше місяця, перебіг крововтрати характеризувався найвиразнішими порушеннями ультраструктури досліджуваних тканин, що вказує на неспроможність пристосувальних механізмів протидіяти несприятливим впливам на організм при незавершеній адаптації [4].

Перебіг іммобілізаційного стресу при нормо- та гіпобарії був практично однаковим щодо змін ультраструктури та морфометричних характеристик тканини легень і міокарда (7-ма та 8-ма групи). В обох випадках зберігалися усі ознаки „стресорних” легень (набряк, деструкція, геморагічні прояви); також спостерігалось достовірне і однакове збільшення товщини АГБ, тобто його гіпергідратація (рис. 2,а). Це саме стосується і змін ультраструктури міокарда та набряку ГПБ (див. рис. 2,б). Імовірно, при стресі відбувається включення механізмів пошкодження (зокрема катехоламінзалежних процесів [3]), які не піддаються позитивному впливу середньогір'я.

Виявлені відмінності змін морфофункціонального стану тканини легень і міокар-

да на рівнині (в нормо- та гіпоксичних умовах) і у середньогір'ї наштовхнули на думку про те, що вони можуть бути зумовленими не тільки змінами концентрації кисню, а і/чи, більшою або меншою мірою, змінами барометричного тиску. Причому цей вплив є відмінним при різних додаткових впливах на організм.

Було показано, що 2-тижневе гіпоксичне тренування тварин без зниження барометричного тиску (3-тя група) справляло на ультраструктуру досліджуваних тканин менш травматичний вплив, ніж гіпобарична гіпоксія (4-та група). Остання супроводжувалася значними пошкодженнями цитоплазматичних мембран клітин та окремих клітинних органел, особливо у тканині легень (рис. 3).

Про це саме свідчила і вираженість проявів набряку біологічних бар'єрів: товщина АГБ і ГПБ значно істотніше збільшувалася при гіпобаричній гіпоксії (рис. 4,а,б).

Додатковий гострогіпоксичний вплив супроводжувався менш вираженими структурними порушеннями в тканинах у тварин 10-ї групи, тренуваних до гіпобаричної гіпоксії. При нормо баричній гіпоксії (9-та група) в тканині легень та міокарді були

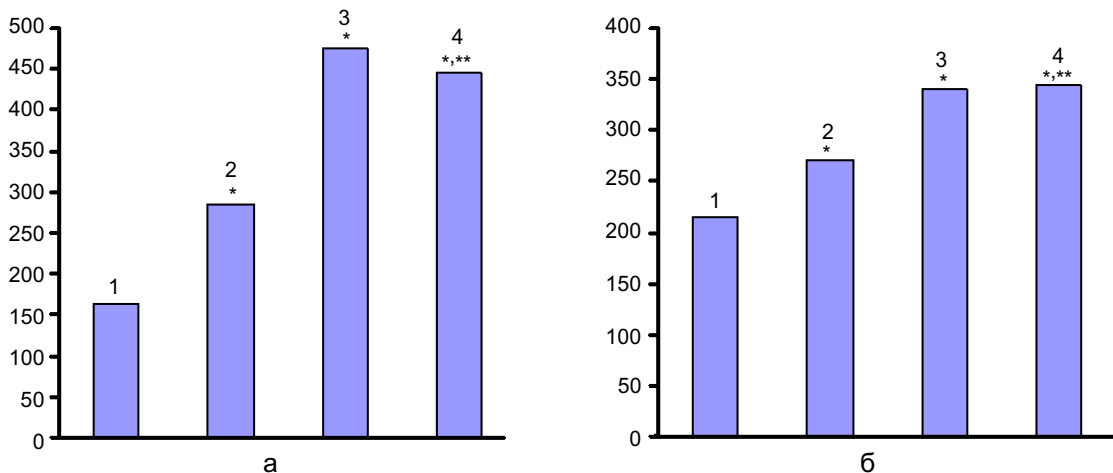


Рис. 2. Середня товщина аерогематозного бар'єра легень (а) та гематопаренхіматозного бар'єра міокарда (б) при іммобілізаційному стресі шурів у м. Київ та с. Терскол (нм). Умовні позначення: 1 – контроль, 2 – умови середньогір'я, 3 – стрес у м. Київ, 4 – стрес у с. Терскол, \* – достовірність порівняно з контролем, \*\* – з умовами середньогір'я

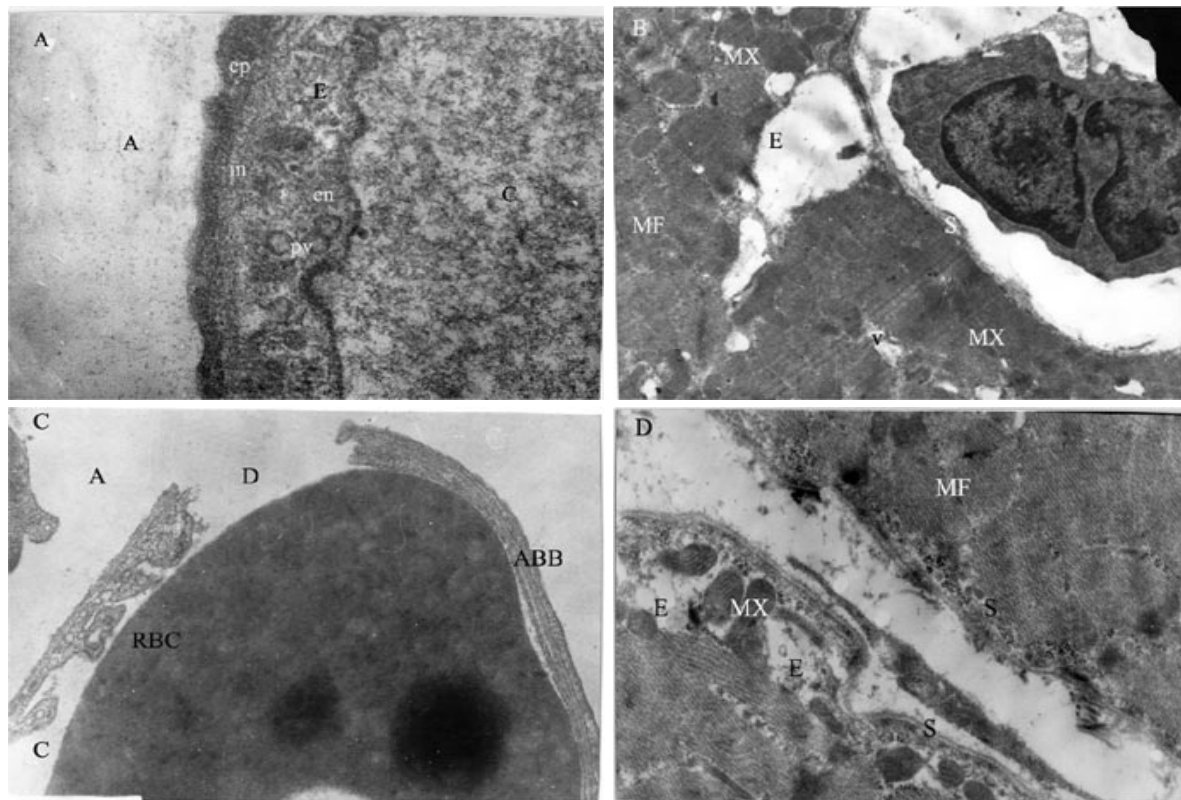


Рис. 3. Ультраструктура тканини легень (А,С) та міокарда (В,Д) під впливом 2-тижневої нормо- (А,В) та гіпобаричної (С,Д) гіпоксії. Умовні позначення: А – альвеола, Е – набряк, С – капіляр, RBC – еритроцит, MX – мітохондрії, MF – міофібрили, S – сарколема, D – деструкція, АВВ – аерогематичний бар’єр, ер – епітелій, ін – інтерстицій, v – вакуолі. 3б. А-32000, В-Д-24000

виражені деструктивні процеси та процеси набряку. При гіпобаричній гіпоксії за цих

умов підвищення проникності цитоплазматичних мембран, яке, як правило,

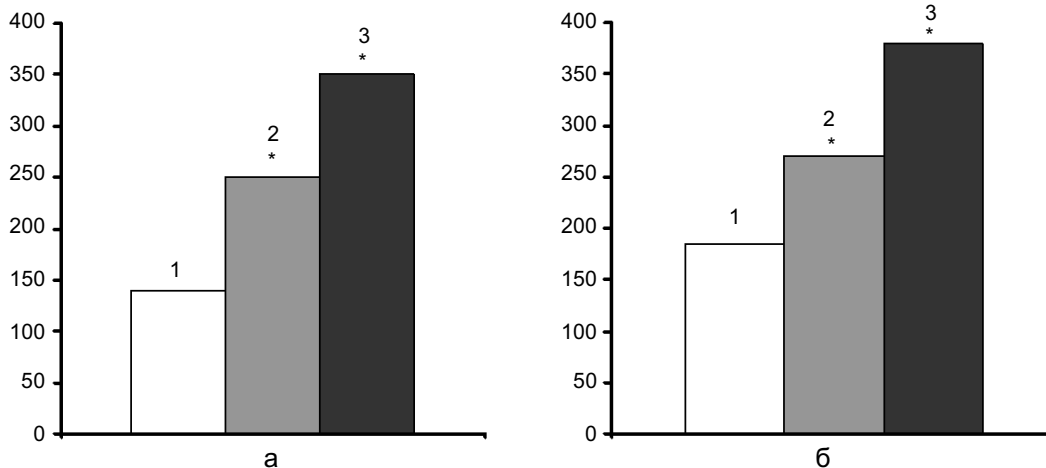


Рис. 4. Середня товщина аерогематичного бар’єра легень (а) та гематоparenхіматозного бар’єра міокарда (б) після гіпоксичних тренувань (нм). Умовні позначення: 1 – контроль, 2 – 2-тижневе гіпоксичне тренування при нормальному барометричному тиску, 3 – 2-тижневе гіпоксичне тренування при зниженому барометричному тиску, \* відмінності достовірні відносно контролю

реалізувалося у локальному набряку (процес утворення вакуолей і так званих пухирів [7]).

Стресорні зміни виявлялися значно менш вираженими в тканинах у тварин після нормобаричної гіпоксії (11-та група). При гіпобарії (12-та група) зберігалися ознаки „стресорних” легень і деструктивні зміни в міокарді. Такі результати збігаються з отриманими в умовах середньогір’я.

Проведені дослідження дають змогу дійти висновку, що як зниження концентрації кисню в навколишньому середовищі, так і зниження атмосферного тиску впливають на морфофункціональний стан тканин легень і міокарда. Причому вираженість дії та пріоритетність цих факторів залежать від наявності додаткових впливів, зокрема таких, що супроводжуються розвитком в організмі гіпоксичних станів різного генезу. Отримані результати вказують на необхідність точної постановки задачі та врахування додаткових ендо- та екзогенних чинників при застосуванні тренувань зі зниженням концентрації кисню в нормобаричних умовах або із залученням для отримання позитивного ефекту гіпобарії.

**K.V.Rozova**

#### **INFLUENCE OF NORMO- AND HYPOBARIC HYPOXIA ON ULTRASTRUCTURE OF LUNG TISSUE AND MYOCARDIUM**

Priority of effect of oxygen concentration and/or atmospheric pressure changes on morphofunctional state of lung tissue and myocardium under exasperate influence on the organism, which lead to the development of different hypoxic states, was investigated. It was shown, that the intermittent hypoxia without barometric pressure lowering influence on ultrastructure of tissues less traumatically, then hypobaric hypoxia. Addi-

tional acute hypoxic influence and acute hemorrhage accompanied with less significant structural violations in lung tissue and myocardium of animals, which were adapted to hypobaric hypoxia. Stress exchanges were less considerable after normobaric hypoxic trainings.

*O.O.Bogomoletz Institute Physiology of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища школа, 1984. – 208 с.
2. Колчинская А.З., Цыганова Т.Н., Остапенко Л.А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. – М.: Медицина, 2003. – 407 с.
3. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 256с.
4. Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии / Под ред. М.М. Середенко. – К.: Наук. думка, 1987. – 200 с.
5. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты / Под ред. Л.Д.Лукьяновой, И.Б.Ушакова. – М.; Воронеж: Истоки, 2004. – 590 с.
6. Ташке К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию. – Бухарест: Изд-во АСРР, 1980. – 192 с.
7. Шахламов В.А., Сороковой В.И. Реакция клеток на гипоксию // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1983. – **85**, № 7. – С. 12–25.
8. Ikegami M., Jobe A.H., Huffman Reed J.A., Whitsett J.A. Surfactant metabolic consequences of overexpression of GM-CSF in the epithelium of GM-CSF-deficient mice // Amer. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 1997. – **273**, № 6. – P. 709–714.
9. Lemaire I., Yang H., Lauzon W., Gendron N. M-CSF and GM-CSF promote alveolar macrophage differentiation into multinucleated giant cells with distinct phenotypes // J. Leukoc. Biol. – 1996. – **60**, № 3. – P. 509–518.
10. Marian A.J., Yu Q.-T., Mann D.L. et al. Expression of a Mutation Causing Hypertrophic Cardiomyopathy Disruption Sarcomere Assembly in Adult Feline Cardiac Myocytes // Circulat. Res. – 1995. – **77**, № 1. – P. 98–106.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ  
E-mail: rozova@ukr.net*